Aus der Medizinischen Universitätsklinik zu Göttingen.
Direktor: Prof. Dr. H. Straub

Versuche über Veränderungen der Thrombocytenzahl

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät der Georg-August-Universität
zu Göttingen

vorgelegt
am 10. Oktober 1938

von

Anneliese Walther

aus Peine / Hannover

GÖTTINGEN 1939

BUCHDRUCKEREI FERDINAND PIEPER / WEENDE-GÖTTINGEN

Dekan: Prof. Dr. W. Krantz
Berichterstatter: Dozent Dr. med. H. J. Wolf

Tag der mündlichen Prüfung: 9. Dezember 1938

Seit langer Zeit ist die postoperative Thrombose eine gefürchtete Komplikation der Operation und ihre Verhütung steht bei der chirurgischen Nachbehandlung im Mittelpunkt des Interesses. Naturgemäß seltener, darum aber von nicht geringerer Bedeutung bei ihrem Auftreten ist die Thrombose im Verlauf von Infektionskrankheiten. Zahlenmäßig und in bezug auf seine Wichtigkeit steht hier der Typhus obenan. Seitdem die Leberbehandlung der Perniciosa die Therapie der Wahl wurde, hat neuerdings auch da das vereinzelte Vorkommen einer Thrombose nach erfolgten Lebergaben die Aufmerksamkeit auf sich gezogen.

Bevor ich auf die Untersuchungen der einzelnen Autoren über die Ursachen der Thrombose bei der jeweiligen Krankheit eingehe, möchte ich zunächst ganz allgemein den Vorgang der Thrombosebildung kurz besprechen. Um aber das Zustandekommen dieser schwerwiegenden Komplikation richtig verstehen zu können, muß man sich der Vollständigkeit halber zunächst eine Vorstellung über das Entstehen der Thrombocyten machen.

Die allgemeine Anschauung geht darauf hinaus, die Thrombocyten als Zerfallsprodukte der Megakaryocyten des Knochenmarks anzusehen. Du Bois findet die Megakaryocyten unter besonderen Bedingungen im kreisenden Blut. Stahl und Boshammer sprechen in ihren Arbeiten von Riesenzellen, ohne deren Herkunft genau festzulegen. Ihrer Versuchsanordnung ist jedoch zu entnehmen, daß es sich bei den auftretenden Formen immer um Zellen handelt, die dem Knochenmark entstammen. Schilling vermutet in den Thrombocyten die Reste der Normoblastenkerne. Der Vollständigkeit halber möchte ich Livadas erwähnen, der mit seinen Beobachtungen noch ziemlich vereinzelt dasteht. Er stellte bei anämischen Kaninchen größere Zellgebilde fest, die nicht mit den Knochenmarks-Megakaryocyten identisch sind, bei deren Zerfall aber Thrombocyten entstehen. Horwitz und Stahl sahen die Riesenplättchen als Jugendformen an. Stahl, der mit der von Fonio angegebenen Methode zählt, findet sie regelmäßig bei Thrombocytenkrisen im Blutbild. Nittis, welcher ähnlich der Fonio-Methode eine Vitalfärbung seiner Präparate auf dem Objektträger benutzt, stellte nach Blutremissionen nach Lebertherapie in allen Fällen nur eine unregelmäßige Ausschwemmung der Riesenplättchen fest, ähnlich wie Hedwig Weiß, welche aber bei ihren Untersuchungen über Thrombo-

cytenveränderungen im Verlauf des Typhus die moderne Methode nach Flößner gebrauchte. Boshamer beobachtete im Gegensatz zu Stahl und Horwitz während der Regeneration eine auffallende Vermehrung der kleinsten Plättchen und glaubt, in ihnen Jugendformen vor sich zu haben. Er machte als einziger systematische Versuche, in welchen er ein Antiplättchen-Serum spritzte, das die Thrombocyten zunächst völlig verschwinden ließ. Er beobachtete bei der dann folgenden Ausschwemmung als erste Riesenzellen, welche den im Normalblut kreisenden glichen, danach kleinste Thrombocyten, und auf diese erst erfolgte das Auftreten von mittleren bis großen Formen. In den zunächst erscheinenden Riesenzellen, von ihm Megalochlorocyten genannt, sieht er die den Myelocyten entsprechenden Formen. Es ist wahrscheinlich, daß die kleinsten Plättchen, welche nach Boshamer und Hedwig Weiß die geringste Resistenz haben, Stahl, Horwitz und auch Nittis überhaupt entgangen sind, da sie nach der Fonio-Methode zählen, deren Normalwert um rund 550 000 unter demjenigen der von Boshamer gebrauchten Flößnerschen Methode liegt. Nach Boshamer haben die kleinsten Plättchen 49% Anteil an der Gesamtzahl der im normalen Blut vorhandenen Thrombocyten.

Er und auch später Hedwig Weiß stellten also mit ihrer modernen Methode sowohl am Versuchstier wie auch bei Thrombocytenremissionen am Menschen eindeutig eine überwiegende Vermehrung der kleinsten Formen fest, verbunden mit einer geringeren Resistenz dieser Plättchen. Die mittleren und großen Thrombocyten folgen zeitlich in ziemlichem Abstand.

Auf die Bewertung der einzelnen Methoden wird bei der Besprechung der eigenen Versuche noch eingegangen werden.

Was nun die Thrombose im allgemeinen angeht, so müssen zu ihrer Entstehung bekanntlich drei Vorbedingungen erfüllt sein. Es muß einmal eine Verlangsamung der Blutströmung bestehen, dann eine Veränderung der Blutflüssigkeit und schließlich eine Veränderung der Gefäßwand.

Von Aschoff wurde das Hauptgewicht auf die Blutverlangsamung gelegt, aber schon sein Schüler Kusama zeigt in seinen Versuchen, daß die Verlangsamung zugleich eine Veränderung der Blutplättchen bewirkt. Lampert bereichert und bestätigt diese Erfahrungen durch Plättchen-Untersuchungen beim einfachen und beim Stauungsikterus, ebenso Liesegang mit Versuchen über die verschiedenen Zustände in einem durchströmten Rohr. Die Veränderungen der Gefäßwand, wie sie neben den Infektionskrankheiten nach Dietrich auch alle Vorgänge gesteigerten Gewebsabbaues zeigen, rufen nach den meist verbreiteten Ansichten eine veränderte Oberflächenspannung hervor (Lampert, Dietrich und Schröder),

welche ihrerseits zu einer vermehrten Anziehungskraft oberflächenaktiver Körper, wie z. B. der Blutplättchen oder Bakterien führt. Im Falle einer Thrombocytenvermehrung und deren Resistenzverminderung wird also auch eine geringfügige Gefäßwandschädigung, die sonst vielleicht unbemerkt verliefe, schon eine erhebliche Wirkung entfalten. Der dritte Faktor, die Veränderung der Blutflüssigkeit, beruht nach Lampert's Angaben in erster Linie auf einer verminderten Resistenz der Blutplättchen, welche dann hinwiederum durch Aufteilung in kleinste Oberflächenkräfte eine Erhöhung der Viskosität bewirkt. Wenn bei Thrombocytenremissionen, überhaupt bei jeglicher Vermehrung der Blutplättchen nach den Beobachtungen von Boshamer zunächst die kleinsten Formen mit ihrer geringeren Resistenz in großer Anzahl auftreten, so kann man sich gut die daraus erfolgende Thrombosebereitschaft vorstellen. Eine Rolle spielen bei der Veränderung der Blutflüssigkeit ebenfalls die Ansäuerung des Blutes, wie sie z.B. nach Operationen auftritt (Lampert), ebenso die Anreicherung des Körpers mit schwach negativ aufgeladenen oder fast neutralen Eiweißkörpern wie Globulin oder Fibrinogen, die beide im Verlauf von Fieber und bei erhöhtem Zellverfall auftreten, also nach Operationen, beim Typhus, im Wochenbett, dann auch bei bisher noch nicht erwähnten Krankheiten, wie z. B. bei zerfallenden Neubildungen, Kreislaufinsuffizienz und Kachexie (Starlinger und Sametnik). Es werden in jedem Fall die stark negativ aufgeladenen Thrombocyten entladen, ihre gegenseitige Abstoßung vermindert und ihre Verklumpung also begünstigt und beschleunigt.

Aus dem bisher Gesagten geht hervor, daß den Thrombocyten entsprechend einer allgemein gehegten Vermutung eine besonders wichtige Rolle in den zur Thrombose führenden Vorgängen zukommt. Deshalb untersuchten verschiedene Forscher unabhängig voneinander das Verhalten der Thrombocyten im Verlauf der oben erwähnten Erkrankungen, also nach Operationen, beim Typhus und bei der perniciösen Anämie. Hueck und etwas später Earlam beobachteten insgesamt 150 Operierte. Evans zählte in Parallele dazu die Thrombocyten nach Geburten, Galloway nach Frakturen. Nachdem zunächst manchmal eine kleine Senkung der Thrombocyten zu verzeichnen war, haben dann die übereinstimmenden Ergebnisse von Earlam und Hueck ein Anwachsen der Thrombocyten vom 6. bis 10. Tag nach der Operation in verschieden hohem Grad gezeigt. In dieser Zeit erreichten die Todesfälle an Thrombose ein Maximum. In der Mehrzahl der Beobachtungen stieg die Zahl der Thrombocyten parallel zur Schwere der Operation. Trotz ganz gleich gewählter Operationsbedingungen wurden allerdings auch Differenzen der einzelnen Thrombocytenkurven gefunden. Ganz wenige Fälle reagierten garnicht. Nach drei Wochen war immer wieder der Normalwert der

Blutplättchen erreicht. Zusammenfassend konnte Earlam sagen, daß die Ausmaße der Krise abhängig waren, einmal von der Schwere der Operation und zweitens von der individuellen Empfindlichkeit der Patienten. Evans stellte gleiche Untersuchungen nach normalem Partus an und konnte dort ein ähnliches Verhalten der Thrombocyten mit anfänglicher Senkung und dann folgendem Anstieg um 100 % beobachten. Bei der Kombination von Geburt und Operation, der Sectio caesarea, erhöhten sich die Zahlen um ein Wesentliches (Durchschnittsanstieg: Maximum: 200 %, Minimum: 140 %). Wieder stellten sich die vorkommenden Thrombosen parallel zum Thrombocytenanstieg ein. Galloway zählte die Thrombocyten nach Frakturen und fand eine ähnliche Reaktion wie die oben genannten Autoren. Hier lag der Höhepunkt der Krise aber erst am 14.—16. Tage. Femurfrakturen, die eine verhältnismäßig sehr umfangreiche Substanzschädigung setzen, zeigten den größten Prozentsatz an Lungenembolien. Die Zerstörung des Gewebes, das Vergießen von Blut und die Resorption von beiden sind nach Ansicht des Verfassers die Ursachen für den Thrombocytenanstieg und demzufolge auch die Thrombosen, sowohl bei Operationen, Geburten, wie auch bei Frakturen. In der Therapie, die z. B. gerade bei Femurfrakturen, aber auch bei anderen Brüchen eine unbewegliche Lage des Patienten erfordert und damit eine venöse Stauung bewirkt, sieht der Verfasser einen zweiten Faktor, welcher zur Entstehung der gefährlichen Komplikation führt; eine Feststellung, die den oben angeführten allgemeinen Anschauungen über die Bildung der Thrombose völlig entspricht.

Abgesehen von einer Verschiedenheit im zeitlichen Auftreten und in ihrer Höhe haben alle drei Autoren in der Thrombocytenkrise, die sie parallel zur Thrombose auftreten sahen, prinzipiell das gleiche Resultat zu verzeichnen.

Wie beobachtet, entstehen auch nach Infektionskrankheiten, besonders nach dem Thyphus Thrombosen, und zwar treten sie hier, wie auch nach anderen fieberhaften infektiösen Erkrankungen, nicht während der Krankheit, sondern erst in der Rekonvalescenz auf, nachdem zuvor im akuten Stadium speziell beim Typhus eine ausgeprägte Thrombopenie bestanden hatte. Die Thrombocytenvermehrung beim Typhus hat aber besondere Ursachen: Ist nämlich ein Grund für die Erhöhung der Blutplättchenzahl in der Resorption von Zerfallsprodukten zu sehen, wie aus den Untersuchungen von Earlam, Evans und Galloway hervorgeht, so ergibt sich hier beim Typhus ein zweiter Grund, der im Fortfall einer toxischen Knochenmarkshemmung besteht. Das wird an Hand weiterer Untersuchungen später zu besprechen sein. Schließlich ist auch noch die dritte Möglichkeit, nämlich eine Kombination von beiden Ursachen vorhanden.

Verhältnismäßig frühe und umfassende Untersuchungen über die Thrombocytose hat beim Typhus Hartmann gemacht. Er findet regelmäßig einen Thrombocytenanstieg aber, wie gesagt, immer erst nach der Entfieberung. Ähnliche Beobachtungen, einige atypische Fälle abgezogen, machte H. Weiß. Da dieser Anstieg nicht für den Typhus kennzeichnend ist, sondern auch nach dem Abklingen der Temperaturen bei anderen Infektionskrankheiten wie z. B. beim Paratyphus B, bei der Grippe, beim Scharlach und bei der Pneumonie festgestellt wurde, so nimmt Hartmann als wahrscheinlich an, daß der thrombocytenbildende Apparat durch die Abbaustoffe des genesenden Organismus zur Herstellung neuer Abwehrmaßnahmen veranlaßt wird. Verschiedene Autoren glaubten nämlich in den Thrombocyten bakterienbekämpfende Zellformen vor sich zu haben: Delrez-Govaert z. B. vermutete, daß ein Verschwinden der Mikroben aus dem Blut durch Zusammenballung von Bazillen und Plättchen zustande käme. Bull, Roskam und Boshamer schreiben ihnen immunisatorische Fähigkeiten zu. Jedenfalls stoßen wir hier bei Hartmann, der ein Entstehen der Thrombocytose durch die Abbaustoffe des Organismus erklärt, auf die gleiche Theorie, die Galloway auf Grund seiner und ähnlicher Untersuchungen bei einer Gruppe ätiologisch ganz anderer Krankheiten aufstellte. Nach der Arbeit von Wolf, Tschesche, Kröger u. Wolf hat die Thrombocytenkrise aber eine grundsätzlich verschiedene Ursache. Ihre Untersuchungen zeigten bei Prüfung der Veränderungen von Blut und Knochenmark, daß Typhustoxininjektionen beim Kaninchen eine weitgehende Reifungs- und Ausschwemmungssperre für alle zellulären Bestandteile des Blutes verursachen, soweit sie myeloischer Abkunft sind. Sobald aber die Toxineinwirkung aufhörte, erschien schlagartig eine Menge jugendlicher Zellformen im Blut, um dann dort eine erhebliche Retikulo- oder Thrombocytenkrise zu verursachen. Wir werden also aller Wahrscheinlichkeit nach in der Aufhebung einer knochenmarkshemmenden Toxinwirkung, wenn nicht den alleinigen, so doch zumindest den Hauptgrund für die Thrombocytenvermehrung in der Typhusrekonvalescenz sehen müssen.

Im Gegensatz zu einer auffallenden atypischen Beobachtung von H. Weiß fand Hartmann ebenso wie Earlam, Evans und Galloway in der Mehrzahl der Fälle durchweg einen zeitlichen Zusammenhang von Thrombocytenanstieg und Thrombosebildung. H. Weiß, die allerdings unter ihren 19 Typhuskranken nur eine Thrombose erlebte, beschreibt einen Fall mit Beinthrombose und einem nur äußerst geringfügigen Thrombocytenanstieg. Weitere auffallende Beobachtungen machte sie bei drei familiären Fällen ohne jegliche Plättchenreaktion. Hier dürfte offensichtlich das auch von Earlam erwähnte konstitutionelle Moment eine Rolle spielen,

welches nach ihm neben der Schwere der Operation als zweiter Faktor den Thrombocytenanstieg bestimmend beeinflußt.

Wenn auch die Zahl der in der Typhusrekonvalescenz angestellten Untersuchungen bisher noch verhältnismäßig gering ist, so kann man doch zusammenfassend sagen, daß die überwiegende Mehrheit der Fälle eine Thrombocytose ergab, die zu der hin und wieder auftretenden Thrombose in zeitlichem Zusammenhang stand.

Bei Wolf's Untersuchungen über die Typhusanämie ergab sich eine bisher noch unbekannte Gemeinsamkeit zwischen dieser und der Perniciosa. Gab man nämlich zu den fortlaufenden Typhustoxin-Injektionen ein Leberpräparat, so zeigten die Versuchstiere 7 bis 8 Tage nach Beginn der Behandlung eine weitgehende Remission des peripheren Blutbildes mit anfänglicher Retikulo- und Thrombocytenkrise trotz andauernder Toxinwirkung. Ganz gleiche Wirkung entfalten, wie bekannt ist, die Leberpräparate bei der Perniciosa. Die Retikulocytenkrise erscheint dort mit solcher Regelmäßigkeit, daß man sie sogar zur Standardisierung des jeweiligen Mittels geeignet findet (v. Borros, Peabody, Morawitz). Es soll hier nicht darauf eingegangen werden, in wie weit sich beide Anämien gleichen. Es genüge der Hinweis auf einen gleichen Vorgang, der sowohl die Typhusthrombocytose sowie diejenige im Verlauf der Perniciosa-Therapie verursacht. Da wir nämlich wissen, daß die Lebertherapie auch bei der Perniciosa nicht kausal angreift, sondern zeitlebens fortgeführt werden muß, um die bisher noch unbekannten Einwirkungen der Krankheit auf das Knochenmark immer wieder aufzuheben, so werden wir auch in der Thrombocytose nach der Leberbehandlung in erster Linie die Reaktion auf eine Enthemmung des Knochenmarks vermuten. Daß bei der Perniciosa in bezug auf die Knochenmarkssperre gleiche Verhältnisse vorliegen wie beim Typhus, beweisen die gelegentlichen Spontanremissionen, die man vor der Erforschung der Lebertherapie beobachten konnte. Es besserte sich dabei nicht nur das Allgemeinbefinden und das rote Blutbild, das bezeichnenderweise im Anfang solcher Erholungen immer eine erhebliche Erythroblastose aber nur für ganz kurze Zeit zeigte, sondern es vermehrte sich auch die Zahl der weißen Blutkörperchen und der Thrombocyten, wenn auch nicht sehr erheblich (Schittenhelm).

Verschiedene Ansichten herrschen über das Erscheinen der Thrombocytenkrise nach der Lebertherapie. Nach Christenson liegt ihr Auftreten vor der Retikulocytensteigerung, nach Nittis während der Anhäufung, nach Dyke und Stewarts hauptsächlich nach der maximalen Retikulocytenvermehrung im Blut.

Nach einem von 6 veröffentlichten Perniciosafällen stellte Dyke nach einer ausgeprägten Thrombopenie von 17 000 Plättchen einen ebenso auffallenden Anstieg der Thrombocyten auf 533 600 fest. Zur

Zeit des Thrombocytenhöchststandes erkrankte der Patient unter den Zeichen einer Lungenembolie. Dyke schließt daraus, ebenso wie Earlam oder Hartmann, um nur zwei oft erwähnte Namen zu nennen, daß der Thrombocytenanstieg hauptsächlicher Grund für eine Thrombose ist.

Nach den vorliegenden Literaturangaben ist also all den ursächlich verschiedenen Krankheiten, in deren Verlauf eine Thrombose vorkommt, ein Thrombocytenanstieg gemeinsam, der zu der etwa auftretenden Thrombose parallel verläuft. Wenn man nun bedenkt, daß mit der Thrombocytenvermehrung nach Dietrich und Boshamer sehr häufig eine Resistenzverminderung einhergeht, welche infolge ihrer Einwirkung auf die Oberflächenkräfte die Blutflüssigkeit auch noch weitgehend verändert, so finden wir die eingangs gehegte Vermutung bestätigt: Es sind die Thrombocyten nicht nur ein wichtiger, sondern der ausschlaggebende Faktor in allen zur Thrombose führenden Vorgängen, und ihre Anzahl im Blutbild ist ein verläßliches Kennzeichen der Thrombosebereitschaft.

Meine Versuche nun sollten das Verhalten der Thrombocyten nach Injektionen verschiedener Stoffe beobachten, und zwar versuchten wir einerseits, einen der Faktoren herauszugreifen, die für die Thrombocytose nach den verschiedenartigen Krankheitsgruppen verantwortlich zu machen sind; andererseits aber war es uns auch wichtig, gewisse Stoffe überhaupt einmal auf ihre thrombocytensteigernde Wirkung hin zu untersuchen. Wir wissen, daß dem Zustand nach Operationen, Frakturen, Geburten und in geringerem Maße auch dem Typhus der Gewebsabbau gemeinsam ist und daß bei diesen Vorgängen Aminosäuren entstehen können. Eine von ihnen, das Tyrosin, ist bereits genauer in bezug auf seine Knochenmarkswirkung untersucht worden. Man hat dabei gefunden, daß es einen Reiz für die Erythrocyten bildet und bei der normalen Ratte eine Retikulocytenkrise hervorruft (Tschesche und Wolf). Es bestand nun die Frage, ob auch auf die Thrombocyten eine ähnliche Wirkung ausgeübt wird. Wir spritzten also einige Versuchstiere mit verschiedenen Tyrosindosen.

Weiterhin war es von Interesse, ein Leberpräparat zu untersuchen, um festzustellen, ob seine Verabreichung auch beim gesunden Tier eine Thrombocytenkrise hervorruft, denn wie erwähnt, wird die Leberbehandlung in der Perniciosarekonvaleszenz für die Neigung zu Thrombosen verantwortlich gemacht.

Dann haben wir noch Tusche injiziert. Man hat nach solchen Einspritzungen Normoblasten im strömenden Blut gefunden, und es sollte nun ein vielleicht vorhandener Einfluß auf die Thrombocyten

erforscht werden. In einer demnächst erscheinenden Veröffentlichung von M. Becker finden sich nähere Angaben über die Wirkung der Tusche.

Schließlich wurde noch ein Versuchstier mit Cebion gespritzt. Man hat die Verwendung von Vitamin C in Form von subcutanen oder intravenösen Injektionen als therapeutisches Mittel bei allen hämorrhagischen Prozessen vorgeschlagen, und es interessierte uns, etwas über seinen Einfluß auf die Thrombocyten und damit zugleich über die Art seiner therapeutischen Wirkung zu erfahren.

Methodik.

Vor jeder Injektion wurden zunächst die Erythrocyten- und Thrombocytenwerte des normalen Blutbildes festgestellt. 1 bis 2 Tage nach der Injektion zählte ich täglich ungefähr zur gleichen Tageszeit rote Blutkörperchen und Blutplättchen. Die Erythrocyten wurden bestimmt in einer Verdünnung von 0,5 : 100 in der Neubauer'schen Zählkammer. Zur Zählung der Thrombocyten benutzte ich die von Fonio angegebene Methode und im ersten Tierversuch auch die von Flößner angewandte Zählart.

Nach Flößner höhlt man einen Paraffinblock mit einem erhitzten, wassergefüllten Reagensglas aus und gibt in die Vertiefung 30 Tropfen einer Tyrodelösung und 6 Tropfen einer filtrierten 1 $^0/_{00}$ Kochsalzsublimatlösung, welche beide vorher durch harte Filter passiert sein mußten, um eine völlige Sauberkeit zu garantieren. Da mir diese Mischung für einen Blutstropfen zu gering war, so habe ich sie in Anlehnung an H. Weiß auf 60 gtt. der Tyrodelösung und 12 gtt. der Kochsalzsublimat-Lösung verdoppelt. Mit einem von Karnauba-Balsam überzogenen Glasstab rührt man die Mischung um, sticht dann in eine Vene des vorher sorgfältig rasierten und mit einem trockenen Wattebausch gereinigten Kaninchenohres und läßt einen Blutstropfen in die Paraffinschale hineinfallen, rührt wieder mit dem überzogenen Glasstab und gibt dann einen Tropfen der so entstandenen Lösung in die Neubauer'sche Zählkammer. Unter dem Mikroskop sieht man neben den Erythrocyten gleichgefärbte Thrombocyten in ungefähr $^1/_5$ bis $^1/_{10}$ der Erythrocytengröße. Man zählt alle unterteilten Quadrate der Zählkammer durch und kann aus der Zahl der vorhandenen Thrombocyten, bezogen auf die Zahl der festgestellten Erythrocyten leicht die absolute Thrombocytenzahl errechnen, wenn man beide gefundenen Werte ins Verhältnis zur absoluten Erythrocytenzahl setzt.

Zur Zählung nach Fonio gab ich vor dem Einstich in die Ohrvene des Kaninchens einen Tropfen einer 14 $^0/_0$igen Magnesiumsulfat-Lösung auf die Haut, stach dann mit einer Kanüle durch den Tropfen ein, fing den hervorquellenden Blutstropfen auf einem Objektträger auf und machte einen Ausstrich, den ich so schnell wie möglich durch Hin- und Herschwenken eintrocknen ließ. Nach ungefähr $^1/_4$ Stunde wurde das Präparat in May-Grünwald-Lösung gelegt, nach 2 Min. mit destilliertem Wasser übergossen, in der so verdünnten Lösung 4 Min. stehen lassen, abgespült und für 1 Stunde in die täglich frisch zubereitete Giemsa-Lösung getaucht. Nach so lang andauernder Färbung erkennt man die Thrombocyten im Präparat dann sehr viel klarer und deutlicher. Mit der Ölimmersion und dem Zählokular wurde jeweils die Anzahl der Thrombocyten unter 1000 durchgezählten Erythrocyten festgestellt und auch diese Zahl ins Verhältnis zur absoluten Erythrocytenzahl gebracht.

Beim ersten Tierversuch ergab sich bei den beiden Zählungen zwar fast immer sogar ein zeitliches Übereinstimmen im Anstieg oder Abfall der Thrombocytenzahlen, jedoch waren die mit der Flößnerschen Methode erhaltenen Werte zeitweilig so hoch, daß es mindestens unwahrscheinlich schien, hier absolute Zahlenwerte vor sich zu haben. Ob nun Schmutzteilchen in das Präparat gelangt waren oder ob ein anderer Grund vorgelegen haben mag, ließ sich nicht einwandfrei feststellen. Jedoch erschien mir die Flößner'sche Methode für meine Zwecke nicht zuverlässig genug. Ich wandte sie daher bei den nächsten Versuchen nicht mehr an, obwohl sie es am ehesten ermöglicht, einen Einblick in die Reaktionsfähigkeit des thrombocytenbildenden Gewebes und die prozentualen Anteile der einzelnen Größen an der Gesamtzahl der Blutplättchen zu gewinnen. Für die meisten Untersuchungen ist es weniger wichtig, eine Thrombocytenzahl zu bekommen, die dem wahren Wert möglichst nahe kommt, als vielmehr nur relativ festzustellen, ob die Blutplättchen im Steigen oder im Sinken begriffen sind.

Um als Ersatz für die Flößner'sche Methode eine andere Kontrolle zur Fonio-Zählung zu haben, wollten wir in den späteren Versuchen die Blutgerinnungszeit bestimmen. Dazu verwandten wir zwei Methoden:

1. Man bereitet ein Wasserbad von 25° C, setzt da hinein eine feuchte Kammer, in welcher sich wiederum ein Uhrglas befindet. In das Uhrglas läßt man den zu untersuchenden Blutstropfen, der nur aus einer Vene stammen darf, hineinfallen und zieht dann jede halbe Minute einen dünnen Glasstab oder ein festes Haar hindurch. In der Zwischenzeit schließt man immer wieder die feuchte Kammer dicht ab. Man bestimmt dann mit der Stoppuhr den Zeitpunkt, in welchem ein Fibrinfädchen am Haar hängen bleibt und hat damit die Gerinnungszeit gefunden, die normalerweise beim Menschen 4 bis 5 Minuten beträgt.

Ein Kaninchen fiel von vornherein für alle weiteren Versuche aus, da seine Thrombocytenzahl schon normalerweise 533 000 betrug. Da aber auch bei zwei weiteren Kaninchen schon jedesmal nach einer halben Minute das Fibrinfädchen auftrat, schien mir diese Methode für meine Zwecke ungeeignet, und ich versuchte es mit einer zweiten.

2. Man gebraucht dazu eine auf 28° C erwärmte Ringer-Lösung und ganz feine U-Röhrchen, deren Hohlraum nur ungefähr 1 mm Durchmesser hat. Nach Einstich in die Fingerkuppe bzw. in eine Vene des Kaninchenohres saugt man den Blutstropfen durch die Kapillarwirkung des Röhrchens auf, feilt dann jede halbe Minute ein kleines Stück davon ab und schwenkt dieses mittels einer Pipette in der Ringerlösung. Zunächst löst sich dann der Inhalt des Glasstückchens völlig auf, bis auf einmal ein Gerinnsel bleibt, das auch beim Schütteln nicht zerfließt. Dieser Zeitpunkt, den man ebenfalls mit der Stoppuhr feststellt, entspricht der Blutgerinnungszeit, die auch hier 4 bis 5 Minuten beim gesunden Menschen beträgt.

Drei Versuchstiere — zwei davon hatte ich schon bei der ersten Methode gebraucht — zeigten auch bei dieser Methode in je 3, ins-

gesamt 9 Versuchen, eine Blutgerinnung von ½ bis 2 Minuten. Der letzte Wert wurde nur einmal festgestellt. Die Tiere hatten alle normale Thrombocytenwerte gezeigt. Daraufhin prüfte ich die Methode an drei gesunden, erwachsenen Menschen und stellte beim ersten eine Blutgerinnungszeit von 4 Minuten, bei den beiden anderen in wiederholten Proben eine Gerinnungszeit von 5 Minuten fest. Zwei weiter untersuchte Kaninchen mit normalem Blutstatus zeigten übereinstimmend mit ihren Vorgängern wieder eine Gerinnungszeit von 1 bis ½ Minuten. Daraus ergibt sich, daß aus irgend einem, uns bisher noch unbekannten Grunde die Blutgerinnungszeit des Kaninchens im Vergleich zu derjenigen des Menschen auffallend kurz ist. Da sich die Thrombocytenzahlen in den jeweiligen Blutbildern ungefähr gleich sind, so muß hier ein anderer die Gerinnung beeinflussender Faktor verändert sein. Für einen Kontrollversuch war also die Bestimmung der Gerinnungszeit von mir nicht zu gebrauchen.

Bevor ich an die eigentlichen Versuche heranging, beobachtete ich zunächst 8 Tage lang bei täglicher Zählung das Verhalten der Blutplättchen am normalen Tier, und nachdem dort nur ganz geringfügige Schwankungen in der Zahl der Thrombocyten festzustellen waren, begann ich mit den Injektionen.

In den ersten 3 Versuchen spritzte ich Tyrosin, dessen jeweilige Dosis verschieden groß gewählt wurde. Dem ersten Tier injizierte ich 5 ccm 1 %iges Tyrosin subcutan, dem zweiten 13 mg Tyrosin pro kg Körpergewicht, und dem dritten Tier 0,6 mg pro kg Körpergewicht, jedesmal subcutan. Nach der ersten Injektion von 5 ccm Tyrosin lag der Anstieg nach der Flößner'schen Methode um einige Tage vor der mit der Fonio-Methode festgestellten Thrombocytenvermehrung. Diese zeitliche Differenz wäre nach Boshamer gut zu erklären durch eine vermehrte Ausschwemmung der kleinen, jugendlichen Formen, welche infolge ihrer Neigung zu schnellem Zerfall nach Boshamer und H. Weiß mit der gröberen Fonio-Methode nicht mehr erfaßt werden. Jede Krise im Fonio-Präparat zeigt sich durch ein gehäuftes Auftreten nicht von einzelnen Thrombocyten, sondern nur von großen Thrombocytenhaufen, deren einzelne kleine Bestandteile das Auge nicht immer genau trennen kann, sodaß die errechneten Werte bei den einzelnen Krisen gewiß noch erheblich unter dem wahren Zahlenwert liegen werden. Weil ich zunächst im Fonio-Präparat die Zahlen eher zu niedrig wählte, da nicht selten Agglutinationen der Thrombocyten entstanden, die vorsichtshalber stets als eins gezählt wurden, ist es erklärlich, daß die erste Krise am 9. Tage nicht so hohe Zahlen erreichte, wie die zweite Krise am 14. Tage. In Wirklichkeit hat aber die erste Krise viel größere Ausmaße angenommen als die zweite. Mit dem Eintritt in die 3. Woche scheinen sich nach der Fonio-Zählung die Werte wieder endgültig

dem normalen Zustand zuzuwenden. Nach der Flößner-Zählung zeigen sich noch länger einige Nachschwankungen, deren praktische Bedeutung aber nicht groß sein kann, zumal die Fonio-Kurve in ihrem zeitlichen Ablauf fast genau den Beobachtungen entspricht, die Earlam am Durchschnitt seiner Patienten nach Operationen und Evans nach Geburten beobachtete. Diese Parallele macht es wahrscheinlich, daß wir im Tyrosin, unseren Vermutungen entsprechend, einen wesentlichen Faktor zur Thrombocytensteigerung nach Operationen, Geburten und Frakturen erfaßt haben.

Beim zweiten Versuchstier, das 13 mg Tyrosin pro kg Körpergewicht gespritzt bekam, ist die größte Steigerung der Thrombocytenzahl schon am nächsten Tag zu verzeichnen. Mit dieser Dosierung scheinen wir wohl über den durchschnittlich gesetzten Knochenmarksreiz nach einer Operation u. a. hinausgegangen zu sein. Am 12. Tag ist noch eine erhebliche Nachschwankung aufgetreten, deren Höhe und zeitliches Erscheinen aber den von Earlam und Evans gemachten Beobachtungen absolut nicht widerspricht. Galloway beobachtete jedoch nach Frakturen die Höchstwerte der Thrombocyten im Durchschnitt immer erst am 14. Tag.

Das dritte Versuchstier, dem 0,6 mg Tyrosin pro kg Körpergewicht subcutan injiziert wurde, entspricht in seinem Verhalten mehr den Kurven von Earlam und Evans. Allerdings weist keines von allen drei mit Tyrosin gespritzten Tieren die anfängliche Senkung der Thrombocyten unter Normalwerte auf, welche nach Operationen und Geburten beobachtet wurden. Eine Senkung erfolgt jedesmal nur nach einer vorher aufgetretenen Krise. Beim dritten Tier liegt ein erster Anstieg am 4. Tag, ein zweiter und zugleich höchster am 8. Tag.

Einen bemerkenswerten Anstieg der Thrombocyten konnten wir nach Pernämyl-Injektionen feststellen. Da es sich bei unseren Tieren, wie schon einmal erwähnt, um ganz gesunde Kaninchen ohne jede toxische Schädigung handelt, so ergibt sich daraus, daß die Leberpräparate nicht allein eine enthemmende Wirkung auf das gesperrte, toxisch beeinflußte Knochenmark entwickeln, sondern nebenbei noch besondere knochenmarksreizende Substanzen enthalten müssen. Das wird uns umso weniger wundern, als man ja Leberpräparate auch bei allgemeinen Schwächezuständen ohne nachweisbare, toxische Knochenmarks-Einwirkung zur Regeneration des roten Blutbildes mit Erfolg verordnet. Wahrscheinlich sind auch hier wieder Aminosäuren wirksam. Man weiß, daß das Histidin, welches in der Leber vorhanden ist, eine Retikulocytenkrise, darum vermutlich auch eine Thrombocytenkrise macht. Jakobson fand Tyrosin in einem Prozentsatz von 0,3 in der frischen Leber. Seine Einwirkung auf das erythrocytenbildende Gewebe ist bekannt und wurde bereits schon einmal erwähnt. Nach den Untersuchungen von Tschesche und

Wolf ist auch das in der Leber neben dem Tyrosin vorhandene Xanthopterin in der Lage, knochenmarksreizend zu wirken. Es kombinieren sich also bei der Thrombose im Verlauf der Perniciosa-Anämie zwei Ursachen: einmal die enthemmende Wirkung des Leberpräparates mit der plötzlichen, krisenhaften Ausschwemmung von jugendlichen Erythrocyten und Thrombocyten (Krisen!) und dann die knochenmarksreizende Wirkung, welche eine vermehrte Bildung von Zellformen hervorruft.

Das vierte Versuchstier, Nr. 164, bekam nur eine einmalige Injektion von ½ ccm Leberextrakt subcutan. Es zeigte als einziges von allen 24 Stunden nach erfolgter Einspritzung zunächst ein fast völliges Verschwinden der Thrombocyten aus dem Blutbild, verbunden mit einer deutlichen Senkung der Erythrocytenzahl in dieser Zeit. Diese Empfindlichkeit mag vielleicht ebenso konstitutionell bedingt sein, wie das Fehlen des erwarteten Thrombocytenanstieges, das H. Weiß und Earlam an einigen ihrer Patienten feststellten und deckt sich in gewissem Sinne mit der von Evans beobachteten anfänglichen Senkung der Thrombocyten nach erfolgtem Partus.

Das Versuchstier Nr. 165 erhielt eine Woche lang tägliche Spritzen von ½ ccm Leberextrakt subcutan. Es unterscheidet sich von Nr. 164 durch einen etwas höheren Thrombocytenanstieg, der zeitlich auch ein wenig früher eintritt. Die Nachschwankungen sind gleichfalls ausgedehnter. Beide Tiere haben aber zur selben Zeit ihren Normalwert wieder erreicht.

Die Tiere, denen Vitamin C in Form von Cebion gespritzt wurde (½ ccm i. v.), zeigten im Verlauf der Beobachtungszeit nur geringe Schwankungen der Thrombocytenwerte. Wie unwesentlich diese Differenzen sind, wird vor allem deutlich im Vergleich zu den Zahlen, die wir in den vorhergehenden Versuchen beobachten konnten. Man darf also wohl mit Recht annehmen, daß das Cebion nicht spezifisch auf das thrombocytenbildende Gewebe einwirkt, sondern daß sein therapeutischer Erfolg auf einer Abdichtung der geschädigten Gefäßwand beruht. (Hartmann gab beim hämorrhagischen Typhus Cebion.)

Dem Tier Nr. 137 wurden 3 ccm Tusche subcutan injiziert. Der Verlauf seiner Kurve gestaltete sich am unregelmäßigsten. Auf einen unmittelbaren Anstieg am Tag nach der Einspritzung erfolgte ein baldiger Abfall der Thrombocytenzahl, und derselbe Vorgang der Vermehrung und ebenso schnellen Verminderung der Blutplättchen wiederholte sich regellos noch mehrere Male. Aber auch hier hatte die Zahl der Thrombocyten nach ungefähr 3 Wochen wieder ihren Ausgangswert erreicht. Auch in der Tusche haben wir also einen Stoff vor uns, der neben der Normocytose eine Thrombocytose bewirkt. Die Wirkung der Tusche kann erklärt werden entweder durch

die Annahme eines Knochenmarksreizes oder durch die Annahme des zeitweiligen Fortfalls einer Aussperrungsschranke (siehe bei M. Becker).

Besprechung.

Nach Injektion der von uns gewählten vier Stoffe konnten wir beim Kaninchen eine thrombocytensteigernde Wirkung beobachten:

1. beim Tyrosin,
2. beim Pernämyl,
3. bei der Tusche.

Im Tyrosin haben wir eine Aminosäure vor uns, die bei parenteraler Verabreichung einen starken Knochenmarksreiz bildet. Ihr Einfluß auf die Retikulocyten wurde bereits erwähnt. Aber ihre Wirkung beschränkt sich nicht nur allein auf die Erythrocytengenese, sondern erstreckt sich auch auf die Thrombocyten und bewirkt bei ihnen Agglutination. Es ist dabei von gewisser praktischer Bedeutung, daß wir im Tyrosin eine Aminosäure kennen, die beim Gewebszerfall entsteht und mit relativ geringen Dosen eine Thrombocytenkrise hervorruft, denn damit hätten wir vielleicht eine der Ursachen, welche zu einer postoperativen Thrombose führen kann, erfaßt. — Beim Tyrosin richtet sich die Höhe der Plättchenkrise nach der Höhe der Dosis, aber davon unabhängig ist die Rückkehr zum normalen Zahlenwert, die bei allen mit Tyrosin behandelten Fällen im Verlauf der dritten Woche eintritt.

Um die Vorgänge bei den Perniciosakranken zu erfassen, gaben wir Pernämyl (mittel). Daß die Leberpräparate in der Rekonvaleszenz der Biermer'schen Krankheit auf das geschädigte Knochenmark enthemmend wirken, wurde bereits besprochen. Nun zeigt es sich, daß sie auch beim ganz gesunden Tier eine Thrombocytensteigerung hervorrufen, welche hier aber nicht auf einer Enthemmung, sondern allein auf einer Reizung des Knochenmarks beruhen kann. In den Leberpräparaten sind also nebeneinander zwei Faktoren wirksam, welche zu einer Thrombose führen können. Für die Praxis läßt sich daraus folgern, daß man nicht mehr Pernämyl als unbedingt notwendig spritzen soll, sondern höhere Dosen dann lieber per os verabreicht. — Im übrigen liegen die Verhältnisse beim Pernämyl ähnlich wie beim Tyrosin. Es löst die eine Woche lang täglich durchgeführte Injektion zwar häufigere und auch höhere Thrombocytenanstiege aus, aber nach der gleichen Zeit von $2^1/_2$ Wochen werden auch hier die Zahlenwerte der Thrombocyten wieder normal.

Ob der Einwirkungsmechanismus bei der Tusche ein gleicher ist wie der des Tyrosins (und des Pernämyls) soll im Rahmen dieser

Arbeit nicht näher untersucht werden. Es war jedenfalls von Interesse festzustellen, daß ein chemisch wirksamer Stoff, der zur Normoblastenausschwemmung führt, auch Thrombocytenkrisen auslöst; eine Tatsache, welche vielleicht für wissenschaftliche Versuche Bedeutung haben könnte.

Das Cebion besitzt als einziger der von uns gewählten Stoffe keine Wirkung auf die Thrombocytenvermehrung oder -ausschüttung, sondern seine Kurve verläuft ähnlich derjenigen, die wir beim unbehandelten Tier erhalten hatten. Seine therapeutische Wirkung bei hämorrhagischen Prozessen wird also nicht auf einer Thrombocytenvermehrung beruhen, welche die Viskosität des Blutes erhöht, sondern vielmehr auf einer Abdichtung der Gefäße.

Zusammenfassung.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollten Stoffe untersucht werden, die im Sinne einer Retikulocytenausschwemmung knochenmarksreizend sind, und es bestand die Frage, ob sie auch zugleich eine Wirkung auf die Thrombocyten ausüben und eine Vermehrung der Plättchen im strömenden Blut zur Folge haben.

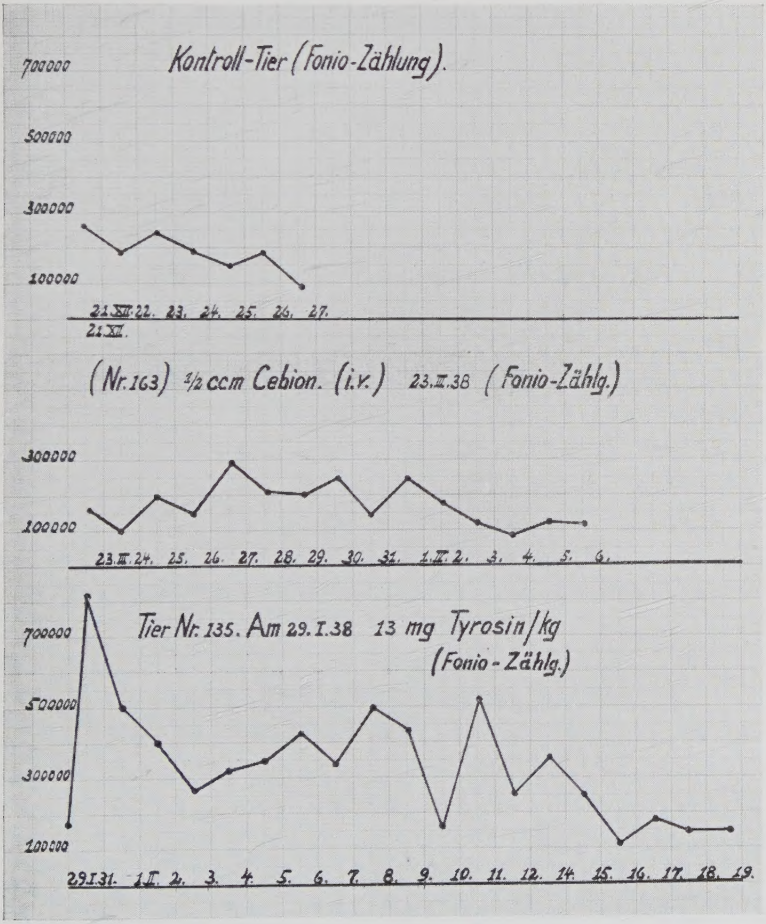
Dabei wurde die plötzliche, rapide Vermehrung der Thrombocyten mit besonderer Neigung zur Agglutination in Verbindung gebracht zu einer Neigung zu Thrombosen.

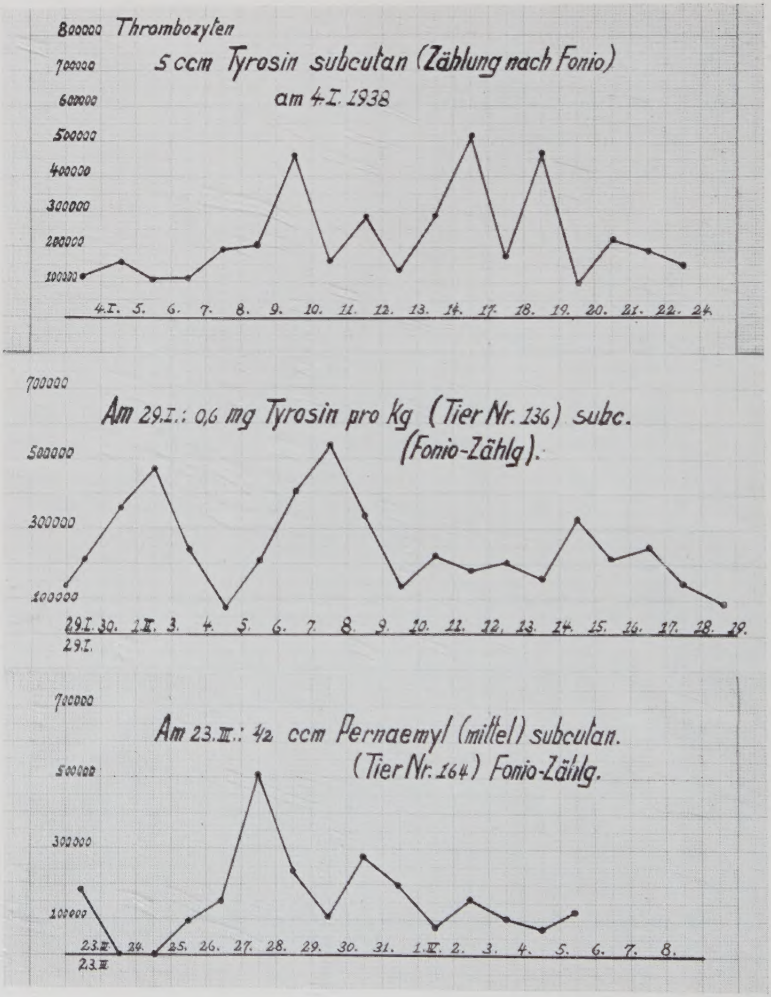
Es wurde festgestellt, daß Leberpräparate (Pernämyl), Tyrosin und Tusche zu Thrombocytenkrisen führen können. In diesen Thrombocytenkrisen wird eine wesentliche Ursache zum Auftreten von Thrombosen nach Operationen gesehen (Tyrosin). Bei der Thromboseneigung in der Perniciosa-Rekonvaleszenz spielt sicher auch die Thrombocytenvermehrung durch Enthemmung des gesperrten Knochenmarks eine besondere Rolle.

Die Tusche besitzt ebenfalls eine thrombocytensteigernde Wirkung.

Als einziges Präparat verursachte die Injektion von Vitamin C (Cebion) keine Thrombocytenkrise.

Zum Schluß möchte ich Herrn Privat-Dozent Dr. med. habil. H. J. Wolf für die Überlassung dieser Arbeit, sowie für seine Anregungen und seine gütige Unterstützung bei ihrer Ausführung meinen besonderen Dank aussprechen.


Kontroll-Tier (Fonio-Zählung).
700000
500000
300000
100000
21.XII.22. 23. 24. 25. 26. 27.
21.XII.
(Nr. 163) ½ ccm Cebion. (i.v.) 23.II.38 (Fonio-Zählg.)
300000
100000
23.II. 24. 25. 26. 27. 28. 29. 30. 31. 1.III. 2. 3. 4. 5. 6.
Tier Nr. 135. Am 29.I.38 13 mg Tyrosin/kg
(Fonio-Zählg.)
700000
500000
300000
100000
29.I.31. 1.II. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12. 14. 15. 16. 17. 18. 19.


800000 Thrombozyten
700000
600000
500000
400000
300000
200000
100000
5 ccm Tyrosin subcutan (Zählung nach Fonio)
am 4.I. 1938
4.I. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12. 13. 14. 17. 18. 19. 20. 21. 22. 24.
700000
500000
300000
100000
Am 29.I.: 0,6 mg Tyrosin pro kg (Tier Nr. 136) subc.
(Fonio-Zählg.)
29.I. 30. 1.II. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12. 13. 14. 15. 16. 17. 28. 29.
29.I.
700000
500000
300000
100000
Am 23.II.: 1/2 ccm Pernaemyl (mittel) subcutan.
(Tier Nr. 164) Fonio-Zählg.
23.II. 24. 25. 26. 27. 28. 29. 30. 31. 1.III. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8.
23.II.

Literatur-Verzeichnis.

Aschoff: zitiert nach Lichtwitz, Liesegang, Spiro: Medizinische Kolloidlehre, S. 451.

v. Borros: Ergebnisse der Inneren Medizin, **42**, S. 674 (1932).

Boshamer: Z. f. exper. Medizin, **48**, S. 631 (1926) Fol. Hämat. Bd. 33, S. 105.

Christenson: Acta Med. Scandinav. Bd. 57, 1922.

Delrez-Govaert: zitiert nach Roskam.

Dietrich u. Schröder: Virchows Archiv 274, 1929.

Dyke u. W. Stewarts: Lancet 1931, S. 1080.

Du Bois: Kongreß Zentralblatt **89**, S. 308, 1937.

Earlam: Lancet 1928, S. 833.

Evans: Lancet 1928, S. 833.

Galloway: Lancet 1931, S. 1081.

Hartmann: Dtsch. Archiv f. klin. Medizin Bd. 158, S. 1 (1928).

Hueck: Münchener Med. Wochenschrift 1926, S. 173.

Jakobson u. Subbarow: New England, Journal of Medicin 1935, S. 663.

Kusama: zitiert nach Lichtwitz, Liesegang, Spiro: Medizinische Kolloidlehre, S. 451.

Lampert: Lichtwitz, Liesegang, Spiro: Medizinische Kolloidlehre, S. 451.

Liesegang: Lichtwitz, Liesegang, Spiro; Medizinische Kolloidlehre, S. 451.

Livades: Kongreß Zentralblatt, **90**, S. 250 (1937).

Nittis: Ann. int. Med. **4**, 1931.

Roskam: Cpt. rend. au Congres de Liège 1924.

Schilling: Das Blutbild und seine Diagnostik. Jena 1930.

Schittenhelm: Handbuch der Krankheiten des Blutes, Bd. II, S. 210. Berlin 1925.

Stahl u. Horwitz: Münchener Med. Wochenschrift, Bd. 22, S. 667.

Starlinger u. Sametnik: Klin. Wochenschrift 1927, Nr. 27.

Tschesche u. Wolf: Hoppe Seyler'sche Zeitschrift f. Physiol. Chemie. Bd. 248, S. 34 (1937).

Weiß: Dtsch. Archiv f. Klin. Medizin, Bd. 165, S. 116 (1929).

Wolf, Tschesche, Kröger u. Wolf: Naunyn-Schmiedebergs Archiv f. exper. Pathol. Bd. 188, S. 429 (1938).

Lebenslauf.

Als Tochter des Studienrats Ernst Walther und seiner Frau Martha, geb. Lauffer, wurde ich am 25. Januar 1914 in Peine bei Hannover geboren. Nach einem 2jährigen Privatunterricht besuchte ich ab Ostern 1922 eine der Peiner Volksschulen, ab Ostern 1923 dann das dortige Lyzeum. Ostern 1930 wurde ich in die Obersekunda des Reform-Realgymnasiums in Peine aufgenommen und bestand dort am 10. 3. 1933 die Reifeprüfung.

In meinen ersten zwei Semestern war ich an der Universität Marburg immatrikuliert und legte dort im April 1934 den ersten Abschnitt der ärztlichen Vorprüfung ab. Dann besuchte ich die Universität Freiburg, danach war ich zwei Semester in Bonn, wo ich im Juli 1935 den zweiten Abschnitt der ärztlichen Vorprüfung bestand. Nach einem Semester in Göttingen und einem darauf folgenden in Königsberg studierte ich zwei weitere Semester an der Universität München und kam dann zu Beginn meines zehnten Semesters im Oktober 1937 nach Göttingen zurück, um hier mein Staatsexamen abzulegen.